



Mueller Hinton Chocolate Agar

Medium for isolation and cultivation of fastidious bacteria.

INTENDED PURPOSE

Medium for the isolation and cultivation of fastidious organisms, particularly *Neisseria gonorrhoeae* and *Haemophilus influenzae*, from clinical specimens. This medium is intended as an aid in the diagnosis, requiring additional tests to complete the diagnostic results.

DESCRIPTION

Mueller Hinton Chocolate Agar supports satisfactory growth of fastidious strains belonging to the genera *Neisseria* and *Haemophilus*.

TYPICAL FORMULA* (Per Litre of Purified Water)

Tryptone	11.0 g	Cyanocobalamin	0.001 g
Peptone	3.0 g	L-Cystine-HCl	0.02 g
Sodium Chloride	3.0 g	L-Tryptophan	0.02 g
Glucose	2.0 g	Pyridoxine	0.003 g
Starch	1.0 g	D-Pantothenic Acid	0.003 g
Sodium Phosphate Bibasic	2.0 g	NAD	0.003 g
Sodium Acetate	1.0 g	Biotin	0.0003 g
Magnesium Glycerophosphate	0.2 g	Thiamine	0.00004 g
Calcium Gluconate	0.1 g	Adenine	0.01 g
Cobalt Sulphate	0.001 g	Guanine	0.01 g
Copper Sulphate	0.001 g	Xanthine	0.01 g
Zinc Sulphate	0.001 g	Uracil	0.01 g
Ferric Sulphate	0.001 g	Agar	15.0 g
Manganese Chloride	0.002 g	Defibrinated Horse Blood	50.0 ml
Menadione	0.002 g	Vitalex Growth Supplement	10.0 ml
Final pH 7.4 ± 0.2 at 25°C			

*Adjusted and/or supplemented as required to meet performance specifications.

METHOD PRINCIPLE

The medium consists of a nutritive base enriched with several growth factors. The cultivation of *Haemophilus influenzae* and *parainfluenzae* is ensured by NAD which is an essential coenzyme in the respiratory chain of many fastidious microorganisms. *Neisseria gonorrhoeae* requires L-glutamine, which is present in Vitalex growth supplement. Adenine and guanine are used for nucleic acids synthesis of enzymes and coenzymes. The content of p-aminobenzoic acid, which is present in Vitalex growth supplement, is reduced to a minimum in order to reduce the inactivation of sulphonamides and trimethoprim when the medium is used for susceptibility testing of bacteria to these antimicrobics. L-cysteine is a source of organic sulfur and allows the regulation of the redox potential of the medium. Glucose is a source of energy. Horse defibrinated blood is a further growth factor for fastidious microorganisms. Agar is the solidifying agent.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Standard microbiological supplies and equipment such as: Test tubes, inoculating loops, swabs, incubator, quality control organisms.

SPECIMENS

Mueller Hinton Chocolate Agar can be used for all types of specimens from infections suspected of containing fastidious organisms, particularly specimens taken from body sites normally sterile (e.g., cerebrospinal fluid, abscesses), and as a subculture medium obtained from blood cultures.

Mueller Hinton Chocolate Agar is mainly used for the non-selective isolation of *Neisseria*, *Haemophilus* and other bacteria that may not grow on routinely used blood agar, such as Columbia agar with 5% sheep blood.

Good laboratory practices for collection, transport and storage of the clinical specimens should be applied.

Refer to specific guidelines for more information about specimen collection and preparation.

TEST PROCEDURE

For isolation of fastidious organisms, streak the specimen directly onto the agar surface immediately after reception in the laboratory. Incubate plates in an inverted position at $36 \pm 1^\circ\text{C}$ for 24-48 hours in an aerobic atmosphere enriched with 5% carbon dioxide (*). It is recommended to inoculate specimens also onto appropriate selective media.

***Note:** Incubation conditions (i.e., temperature, time and atmosphere) may vary depending on the specific requirements of the organism being tested.

INTERPRETING RESULTS

At the end of the incubation period, observe the microbial growth. Identification of the microorganisms isolated must be followed by appropriate additional tests.

STORAGE

Store at $2-8^\circ\text{C}$ away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration. Avoid quick temperature shifts to prevent condensation.

SHELF LIFE

4 months.

QUALITY CONTROL

Appearance of Medium: Opalescent, brown.

Expected Cultural Response:

Control strain		Inoculum	Incubation	Criteria
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC® 10211	50-100 CFU	18-24 h $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 5% CO_2	Good growth
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC® 43069			
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC® 49226			
<i>Neisseria meningitidis</i>	ATCC® 13090			

Please refer to the actual batch related Certificate of Analysis (CoA).

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance testing of Mueller Hinton Chocolate Agar was carried out using the QC strains listed above. The results obtained met the established criteria.

LIMITATIONS

Invalid results can be caused by poor specimen quality, improper sample collection, improper transportation, improper laboratory processing, or a limitation of the testing technology. The operator should understand the principles of the procedures, including its performance limitations, in advance of operation to avoid potential mistakes.

Due to nutritional variation, some strains may result in poor growth or fail to grow on this medium.

In vitro susceptibility of an organism to a specific antimicrobial agent does not necessarily mean that the agent will be effective in vivo. Consult appropriate references for guidance in the interpretation of results.

Mueller Hinton Chocolate Agar is intended as an aid in the diagnosis of infectious diseases, requiring further tests to complete the diagnostic results.

WARNING AND PRECAUTIONS

- 1) **For *in vitro* diagnostic use (IVD).**
- 2) **For laboratory professional use only.**
- 3) Operators must be trained and have certain experience. Please read the instructions carefully before using the product. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this document.
- 4) Consult the Safety Data Sheet (SDS) for information regarding hazards and safe handling practices.
- 5) Do not use if the product or packaging appears to be damaged.
- 6) Follow standard precautions. All patient specimens should be considered potentially infectious and handled accordingly.
- 7) Handle all specimens as if infectious using safe laboratory procedures. Dispose of hazardous or biologically contaminated materials according to the practices of your institution.

- 8) Avoid cross-contamination of samples by using disposable tips and changing them after each sample.
- 9) Do not mix reagents of different batches. Please use the product within the validity period.
- 10) Do not eat, drink, smoke, apply cosmetics or handle contact lenses in areas where reagents and human specimens are handled.
- 11) Results should be interpreted by a trained professional in conjunction with the patient's history and clinical signs and symptoms, and epidemiological risk factors.
- 12) Ensure laboratory equipment is calibrated and maintained in accordance with the laboratory's procedure.
- 13) When test results are transmitted from the laboratory to an informatics centre, attention has to be done to avoid erroneous data transfer.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

BIBLIOGRAPHY

See the references at the end of this document.

TABLE OF SYMBOLS

See the table of symbols at the end of this document.

See ordering info below. There may be additional product ref. numbers as well. For an updated listing of available products, visit liofilchem.com

Product	Format	Packaging	Ref.
Mueller Hinton Chocolate Agar	Plate 90 mm	20 plates	10335

Revision History

Revision	Release Date	Change Summary
0	2024-03-08	Updated layout and content in compliance with IVDR 2017/746, version reset to revision 0

This IFU document and the SDS are available from the online Support Center:

liofilchem.com/ifu-sds



Mueller Hinton Chocolate Agar

Terreno per l'isolamento e la coltivazione di batteri esigenti

USO PREVISTO

Terreno per l'isolamento e la coltivazione di batteri esigenti, in particolare *Neisseria gonorrhoeae* e *Haemophilus influenzae*, da campioni clinici. Il terreno è inteso come ausilio alla diagnosi, e richiede ulteriori test per completare i risultati diagnostici.

DESCRIZIONE

Mueller Hinton Chocolate Agar supporta una crescita soddisfacente di ceppi esigenti appartenenti ai generi *Neisseria* e *Haemophilus*.

FORMULA TIPICA* (Per Litro di Acqua Purificata)

Triptone	11.0 g	Cianocobalamina	0.001 g
Peptone	3.0 g	L-Cisteina-HCl	0.02 g
Sodio Cloruro	3.0 g	L-Triptofano	0.02 g
Glucosio	2.0 g	Piridossina	0.003 g
Amido	1.0 g	Acido D-Pantotenico	0.003 g
Sodio Fosfato Bibasico	2.0 g	NAD	0.003 g
Sodio Acetato	1.0 g	Biotina	0.0003 g
Magnesio Glicerofosfato	0.2 g	Tiamina	0.00004 g
Calcio Gluconato	0.1 g	Adenina	0.01 g
Cobalto Solfato	0.001 g	Guanina	0.01 g
Rame Solfato	0.001 g	Xantina	0.01 g
Zinco Solfato	0.001 g	Uracile	0.01 g
Ferro Solfato	0.001 g	Agar	15.0 g
Manganese Cloruro	0.002 g	Sangue Defibrinato di Cavallo	50.0 ml
Menadione	0.002 g	Vitalex Growth Supplement	10.0 ml
pH finale 7.4 ± 0.2 a 25°C			

*Adattata e/o integrata per soddisfare le specifiche di performance richieste.

PRINCIPIO DEL METODO

Il terreno consiste di una base nutritiva arricchita con molti fattori di crescita. La coltivazione di *Haemophilus influenzae* e *parainfluenzae* è assicurata dal NAD, un coenzima essenziale nella catena respiratoria di molti microrganismi esigenti. *Neisseria gonorrhoeae* richiede L-Glutammina che è contenuta nel Vitalex growth supplement. Adenina e guanina sono utilizzate per la sintesi degli acidi nucleici. Il contenuto di acido p-amminobenzoico, presente nel Vitalex growth supplement, è ridotto al minimo al fine di ridurre l'inattivazione di sulfonammidi e trimetoprim quando il terreno è utilizzato per il test di sensibilità dei batteri a questi antibiotici. La L-Cisteina è una fonte di zolfo organico e permette la regolazione del potenziale di ossidoriduzione del terreno. Il glucosio è una fonte di energia. Il sangue defibrinato di cavallo costituisce un'ulteriore fonte di fattori nutritivi per i microrganismi esigenti. L'agar è l'agente solidificante.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Forniture e apparecchiature microbiologiche standard come: Provette, anse da inoculo, tamponi, incubatore, microrganismi per il controllo qualità.

CAMPIONI CLINICI

Mueller Hinton Chocolate Agar può essere usato per tutti i campioni di processi infettivi sospettati di avere microrganismi esigenti, in particolare i campioni prelevati da siti corporei normalmente sterili (ad es., liquido cerebrospinale, ascessi), e come terreno per subcolture ricavate da emocolture.

Mueller Hinton Chocolate Agar viene usato principalmente per l'isolamento non selettivo di *Neisseria*, *Haemophilus* e altri batteri che potrebbero non crescere sull'agar sangue utilizzato abitualmente, come l'agar Columbia con 5% di sangue di montone.

Dovrebbero essere applicate le buone pratiche di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici. Fare riferimento alle linee guida specifiche per ulteriori informazioni sulla raccolta e la preparazione dei campioni.

PROCEDURA DEL TEST

Per l'isolamento di microrganismi esigenti, strisciare il campione direttamente sulla superficie dell'agar subito dopo la ricezione in laboratorio. Incubare le piastre in posizione capovolta a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ per 24-48 ore in atmosfera aerobica arricchita con anidride carbonica al 5% (*). Si raccomanda di inoculare i campioni anche su terreni selettivi appropriati.

***Nota:** Le condizioni di incubazione (ovvero temperatura, tempo e atmosfera) possono variare a seconda dei requisiti specifici del microrganismo da testare.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Al termine del periodo di incubazione, osservare la crescita microbica. L'identificazione dei microrganismi isolati deve essere seguita da appropriati test aggiuntivi.

CONSERVAZIONE

Conservare a $2-8^\circ\text{C}$ al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento. Evitare rapidi cambiamenti di temperatura per prevenire la formazione di condensa.

VALIDITÀ

4 mesi.

CONTROLLO QUALITÀ

Aspetto del Terreno: Marrone, opalescente.

Risultati Attesi dei Test Colturali:

Ceppi di Controllo		Inoculo	Incubazione	Criteri
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC® 10211	50-100 UFC	18-24 h $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 5% CO_2	Crescita buona
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC® 43069			
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ATCC® 49226			
<i>Neisseria meningitidis</i>	ATCC® 13090			

Fare riferimento al certificato di analisi (CoA) relativo al lotto effettivo.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

I test di performance per Mueller Hinton Chocolate Agar sono stati effettuati utilizzando i ceppi CQ sopra elencati. I risultati ottenuti hanno soddisfatto i criteri stabiliti.

LIMITAZIONI

Risultati non validi possono essere causati da una scarsa qualità del campione, da una raccolta inadeguata del campione, da un trasporto inadeguato, da un'elaborazione inadeguata da parte del laboratorio o da una limitazione della tecnologia di analisi. L'operatore deve comprendere i principi delle procedure, compresi i limiti prestazionali, prima dell'operazione per evitare potenziali errori.

A causa della variazione nutrizionale, alcuni ceppi possono mostrare una crescita scarsa o non crescere affatto su questo terreno.

La suscettibilità *in vitro* di un microrganismo ad uno specifico agente antimicrobico non significa necessariamente che l'agente sarà efficace *in vivo*. Consultare i riferimenti appropriati per avere indicazioni nell'interpretazione dei risultati.

Mueller Hinton Chocolate Agar è inteso come ausilio nella diagnosi di malattie infettive, che richiedono ulteriori test per completare i risultati diagnostici.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- 1) **Per uso diagnostico in vitro (IVD).**
- 2) **Solo per uso professionale di laboratorio.**
- 3) Gli operatori devono essere formati e avere una certa esperienza. Si prega di leggere attentamente le istruzioni prima di utilizzare il prodotto. L'affidabilità dei risultati del test non può essere garantita in caso di deviazioni dalle istruzioni contenute in questo documento.
- 4) Consultare la scheda di sicurezza (SDS) per informazioni sui pericoli e sulle pratiche di manipolazione sicure.
- 5) Non utilizzare se il prodotto o la confezione sembrano danneggiati.
- 6) Seguire le precauzioni standard. Tutti i campioni dei pazienti devono essere considerati potenzialmente infetti e maneggiati di conseguenza.

- 7) Maneggiare tutti i campioni come infetti utilizzando procedure di laboratorio sicure. Smaltire materiali pericolosi o biologicamente contaminati secondo le pratiche del proprio istituto.
- 8) Evitare la contaminazione incrociata dei campioni utilizzando puntali monouso e sostituendole dopo ogni campione.
- 9) Non mescolare reagenti di lotti diversi. Si prega di utilizzare il prodotto entro il periodo di validità.
- 10) Non mangiare, bere, fumare, applicare cosmetici o maneggiare lenti a contatto nelle aree in cui vengono manipolati reagenti e campioni umani.
- 11) I risultati devono essere interpretati da un professionista qualificato insieme alla storia del paziente, ai segni e sintomi clinici e ai fattori di rischio epidemiologici.
- 12) Assicurarsi che le apparecchiature di laboratorio siano calibrate e mantenute in conformità con la procedura del laboratorio.
- 13) Quando i risultati dei test vengono trasmessi dal laboratorio a un centro informatico, è necessario prestare attenzione per evitare trasferimenti di dati errati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

BIBLIOGRAFIA

Vedere i riferimenti alla fine di questo documento.

TABELLA DEI SIMBOLI

Vedere la tabella dei simboli alla fine di questo documento.

Vedere le configurazioni disponibili nella lingua inglese.

Questo documento IFU e la SDS sono disponibili dal Support Center online:

liofilchem.com/ifu-sds

References / Riferimenti

1. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, and Tenover FC ed. 1995. Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Ericsson HM, and Sherris JC. 1971. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sec. B, Suppl. 217.
3. Barry AL, Garcia F, and Thrupp LD. 1970. An improved single-disk method for testing the antibiotic susceptibility of rapidly growing pathogens. Am. J. Clin. Pathol. 53: 149-158.
4. Ryan KJ, Schoenknecht FD, and Kirby WMM. 1970. Disc sensitivity testing. Hospital Practice 5:91-100.
5. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, and Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol. 45: 493-496.
6. Mueller JH, and Hinton J. 1941. A protein-free medium for primary isolation of the gonococcus and meningococcus. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 48: 330-333.

Table of Symbols / Tabella dei Simboli

	Batch code / Codice lotto
	Catalogue number / Numero di catalogo
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device / Dispositivo Medico Diagnostico <i>in vitro</i>
	Manufacturer / Fabbricante
	Use by / Utilizzare entro
	Fragile, handle with care / Fragile, maneggiare con cura
	Temperature limitation / Limiti di temperatura
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per <n> saggi
	Consult instructions for use / Consultare le istruzioni per l'uso
	Do not reuse / Non riutilizzare
	Keep away from sunlight / Tenere al riparo dalla luce solare



Liofilchem® s.r.l.

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) Italy

Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com liofilchem@liofilchem.com

